

PCT/JP2004/004296

11.5.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

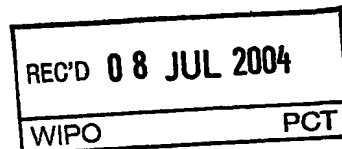
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2003年 3月26日

出 願 番 号
Application Number: 特願2003-084827
[ST. 10/C]: [JP2003-084827]

出 願 人
Applicant(s): 明治乳業株式会社



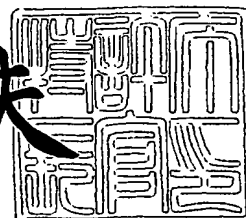
BEST AVAILABLE COPY

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 6月17日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2004-3051980

【書類名】 特許願

【整理番号】 H15008

【提出日】 平成15年 3月26日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 東京都東村山市栄町 1-21-3
明治乳業株式会社食品開発研究所内

【氏名】 伊澤 佳久平

【発明者】

【住所又は居所】 東京都東村山市栄町 1-21-3
明治乳業株式会社食品開発研究所内

【氏名】 中坪 正

【特許出願人】

【識別番号】 000006138

【住所又は居所】 東京都江東区新砂 1丁目 2番 10号

【氏名又は名称】 明治乳業株式会社

【代表者】 中山 悠

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 059101

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸を含む溶液において液中溶存酸素を低下せしめることを特徴とする1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法。

【請求項2】 請求項1記載の方法であって、特に加熱時の安定性を維持することを特徴とする1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法。

【請求項3】 溶液が乳、又は乳を含有することを特徴とする請求項1又は2記載の1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法。

【請求項4】 溶液が乳、乳製品を含有する飲料、乳酸菌飲料、豆乳、野菜汁、果汁、茶系飲料、コーヒー飲料、ココア飲料、スポーツ飲料、栄養飲料、炭酸飲料、アルコール飲料、汁物類からなる群より選ばれる少なくとも1種の液状食品であることを特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載の1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法。

【請求項5】 不活性ガスで置換することで、液中溶存酸素を低下せしめることを特徴とする請求項1～4のいずれか1項に記載の1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法。

【請求項6】 請求項1～5のいずれか1項に記載の方法によって製造してなる飲食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸（以下、DHNAと称す）を含有する飲食品の製造に関するものであって、DHNAの安定化に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

DHNAは、染料、顔料及び感光材料等、工業材料として有用であることが知られており、これまでも有機化学合成法による種々の合成法について報告されている（例えば特許文献1、特許文献2、特許文献3参照）。上記方法は、有機溶媒中高温高圧下での反応、あるいは触媒などに飲食用には適さない試薬等を用いる必要があったことから、このような方法で得られたDHNAを飲食品や医薬品に用いることは今までになかった。

【0003】

そこで、本発明者らはこれらに変わる方法につき研究を進めたところ、プロピオニバクテリウム（*Propionibacterium*）属菌によりDHNAを菌体内外に大量に産生させる方法を見出した。そして、この培養物から採取したDHNA含有組成物、又はDHNAもしくはその塩が、腸内フローラの改善や牛乳摂取時に牛乳不耐症患者にみられる腹部不快症状を低減する作用を有し、さらには骨芽細胞の分化と機能発現を促進し、破骨細胞の形成を抑制することから、代謝性骨疾患の予防治療等にも有用であることを見出した（特許文献4参照）。

【0004】

しかしながら、プロピオニバクテリウム属菌の培養液を、DHNAが有する生理機能を付加するための食品素材として飲食品或いは医薬品に利用するには、これらの製造時や保存中、DHNAの残存量が大幅に減少するという欠点があった。例えば、プロピオニバクテリウム属菌培養物に含まれるビフィズス因子の安定化に、アスコルビン酸、次亜硫酸、及び／又は無水酢酸を使用することが知られているが（特許文献5参照）、この方法を適用するには、飲食品本来の風味を損なう、あるいは食品添加物として認められていないため使用できない、等の問題点が残されていた。

【0005】**【特許文献1】**

特開昭57-128655号公報

【特許文献2】

特開昭 59-186942 号公報

【特許文献 3】

特開昭 60-104037 号公報

【特許文献 4】

PCT/JPO2/08010

【特許文献 5】

特開平 10-108672 号公報

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明はこのような技術の現状に鑑みてなされたもので、DHNAの安定化方法として、安全性に優れ、かつ風味を損なわずに使用できる新しい方法を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するために鋭意検討した結果、DHNAは酸化されやすく、特に酸素存在下における加熱処理が本物質を容易に酸化させ、液中の含有量を著しく低下させることを確認した。そこで、本発明者らは、DHNAを含有する溶液を加熱処理する前に、液中の溶存酸素を減少せしめたところ、意外にも、安定剤を添加することなくDHNA含有量の低下を有意に抑制できることを見出した。本発明は、これらの新知見に基づき完成するに至った。

【0009】

すなわち、本発明は

(1) 1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸を含む溶液において液中溶存酸素を低下せしめることを特徴とする1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法、

(2) 前記(1)記載の方法であって、特に加熱時の安定性を維持することを特徴とする1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法、

(3) 溶液が乳、又は乳を含有することを特徴とする前記(1)又は(2)記載

の 1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法、

(4) 溶液が乳、乳製品を含有する飲料、乳酸菌飲料、豆乳、野菜汁、果汁、茶系飲料、コーヒー飲料、ココア飲料、スポーツ飲料、栄養飲料、炭酸飲料、アルコール飲料、汁物類からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の液状食品であることを特徴とする前記 (1) ~ (3) のいずれか 1 つに記載の 1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法、

(5) 不活性ガスで置換することで、液中溶存酸素を低下せしめることを特徴とする前記 (1) ~ (4) のいずれか 1 つに記載の 1, 4-ジヒドロキシ-2-ナフトエ酸の安定化法、

(6) 前記 (1) ~ (5) のいずれか 1 つに記載の方法によって製造してなる飲食食品、
からなる。

【0010】以下、本発明について詳述する。

【発明の実施の形態】

本発明を実施するには、液中の溶存酸素を低下ないし除去しなければならない。その方法として、例えば、不活性ガスを液中に吹き込み、液中の溶存酸素と置換させ、窒素ガス等の不活性ガスを飽和状態にすればよい。不活性ガス（以下、窒素ガスをその代表として本発明を説明する）の吹き込みは、タンク内及び／又はライン内で行なうことができるが、90℃以下、好ましくは80～85℃以下で置換するのが好適である。上記のほか、溶存酸素の除去方法として既知の方法が本発明において適用可能である。

【0011】

液中溶存酸素濃度とDHNAの安定化との関連については、鋭意検討を進めた結果、液中溶存酸素濃度が2ppm以下ならば窒素ガス置換の効果が明確に生ずることも併せて見出している。即ち、DHNAが溶液中で安定であるためには、液中溶存酸素濃度を2ppm以下に調整しておくことが望ましい。

【0012】

ベースとなる溶液にDHNA含有組成物又はDHNAもしくはその塩を添加してDHNA含有液を調製する際は、ベース溶液の溶存酸素を窒素置換により除去

した状態で添加を行なうことが好ましく、DHNA含有組成物の製造例は、上記特許文献4（PCT/JP02/08010）に記載されている。具体的には、脱脂粉乳や脱脂粉乳のタンパク質分解処理物にビール酵母エキスを添加するなどして調製した培地に、プロピオニバクテリウム・フロイデンライヒを接種して培養することで、DHNA含有組成物を得ることができる。

【0013】

窒素ガスの置換時期は特に限定されることはなく、製造工程のいずれにおいても行うことができるが、DHNAの液中残存量は加熱による影響を最も受けやすいため、DHNA含有液を加熱前、特に加熱殺菌処理する前に溶存酸素を減少せしめることが本発明において最も効果的である。

【0014】

加熱殺菌処理するには、バッチ式、連続式の両者とも適用可能である。前者を含め、加熱殺菌時、DHNA含有液が酸素と接触する機会が多い場合、液中の溶存酸素量は低減された状態に保たれることが望ましい。そこで、加熱殺菌中も継続して窒素ガス置換を行うことが適切である。

【0015】

不活性ガスとしては、具体的に、窒素ガス、アルゴンガス、炭酸ガス等が挙げられる。中でも好ましいのは窒素の使用であり、窒素は、空気中に大量に存在し、比較的成本が低く、しかも安全性が確認されており、飲食品の風味・品質に影響を与えることがない。

【0016】

本発明が適用可能な対象物は、溶存酸素を低減させる際、液状物であれば特に限定されない。例えば溶液が乳、乳製品を含有する飲料、乳酸菌飲料、豆乳、野菜汁、果汁（これらを含有する飲料を含む）、緑茶、紅茶、ウーロン茶等の茶系飲料、コーヒー飲料、ココア飲料、アミノ酸、ビタミン等を含み、特にスポーツ時の水分補給や栄養補給に適したスポーツ飲料、健康増進を目的とし栄養成分が強化された栄養飲料、炭酸飲料等の清涼飲料、アルコール飲料、スープ、味噌汁、澄まし汁などの汁物類を始めとし飲用として食することができる食品の他、最終的には、液状に限らず、流動状、ペースト状、ゲル状、粉状、顆粒状、固形状い

ずれの形態をとることも可能である。具体的には、上記飲食品をゼリー状、ゲル状、フリーズドライ状等に加工したものやとろみをつけたもの、ヨーグルト、チーズ、クリーム、バター、アイスクリーム、調製粉乳等の乳製品、スプレッド、ジャム等のペースト類、ゼリー、プリン、ババロア等のデザート類、マヨネーズ、ドレッシング等の調味料類、流動食等が挙げられる。これらの食品に限らず、健康食品に利用することができ、この健康食品には、特定保健用食品、保健機能食品等の機能性食品が含まれる。また、DHNAは、有機溶媒への溶解性や安定性に優れているため、本発明を安全性に優れた医薬品の製造に利用することもできる。なお、本発明を実施する際、DHNAの安定化剤として知られるアスコルビン酸、次亜硫酸等を併用することも可能である。

【0017】

また、DHNAを含有する最終製品においても、溶存酸素が低下した状態に保たれることが望ましい。保存の際、必要に応じてガスバリア性の高いプラスチック、例えばポリ塩化ビニルアルコールや金属箔等の単用、或いはこれらがラミネートされた容器、包装体を用いることができる。また、遮光性の高い容器、包装体を使用してもよい。

以下、実施例をあげ本発明をさらに詳述するが、これらは本発明を限定するものではない。

[試験例] (DHNAの定量法)

メタノール 5 ml 及び 1% (w/v) アスコルビン酸ナトリウム水溶液 4 ml でコンディショニングした固相抽出カラム (Oasis HLB, Waters (社) 製) に、サンプル 5 ml を通液する。次に 1% (w/v) アスコルビン酸ナトリウム水溶液 5 ml で洗浄し、10% (w/v) アスコルビン酸ナトリウム水溶液/メタノール (1:9) 4 ml で溶出し、得られた溶出液を減圧濃縮する。そのうち 1 ml を取り、上記アスコルビン酸ナトリウム含有メタノールでフィルアップする。これを 0.5 μ m フィルターでろ過したものを HPLC (カラム: Cadenza CD-C18 (4.6 \times 150 mm、インタクト (社) 製)、移動相: アセトニトリル、メタノール、水及び酢酸 (10:20:200:0.1, vol/vol/vol/vol、アンモニア水溶液で pH 7 に調整)、検出器: UV 検出器、検出波長: 254 nm、流速: 1.5

ml/min、カラム温度: 45℃、試料注入量: 20 μ l) に供する。検量線は、DHNA 標品 (046-22422、和光純薬工業 (社) 製) の 1 mg/ml (メタノール溶液) 標準原液を調製し、メタノールで適宜希釈した溶液を用いて作成する。

【0018】

[実施例] (DHNA 含有プレーンヨーグルトの製造法及び窒素ガス置換試験)

DHNA 含有組成物を添加したプレーンヨーグルトの調製を行うために、まず *L. bulgaricus* JCM 1002T、*S. thermophilus* ATCC 19258 をそれぞれ 10% 脱脂粉乳培地に 1% 宛て接種し、37℃ で 15 時間培養してバルクスターターを調製した。DHNA 含有組成物を除いた原材料、すなわち市販の牛乳 80%、脱脂粉乳 2%、水 16.5% を窒素ガスでバブリングしながら調合した。ミックスの溶存酸素濃度は、バブリング前 10 ppm 程度であったが、窒素ガスのバブリングにより 1 ppm 未満まで低下した。このミックスに、PCT/JP02/08010 実施例 2 に従って調製した DHNA 含有組成物を 1.5% 添加し、95℃、5 分間バッチ式で加熱殺菌後、43℃ まで冷却し、前記各バルクスターターを 1% 宛て接種した後、滅菌済みの非バリヤ性のポリスチレン製容器 (アサヒプラスチック (社) 製) に無菌充填し密封した。なお、窒素のバブリングは、スターターを接種するまで継続し、充填後、43℃ で 4 時間発酵させた。発酵終了後は 5℃ で冷却を行い、得られた DHNA 含有プレーンヨーグルトの保存は暗所で 10℃ で 2 週間行なった。

【0019】

上記実施例のプレーンヨーグルトの製造において、ミックス殺菌前、殺菌後、バルクスターター接種直後、発酵終了までの各工程と、保存 1 週間及び 2 週間経過時のプレーンヨーグルト中に含まれる DHNA 量を上記試験例に従って測定した。その結果を図 1 に示す。この図から明らかなように、調製中及び保存中の DHNA の損失は、プレーンヨーグルト調製中にミックスを窒素ガスでバブリングすることによりほぼ完全に抑制されることが判明した。一方で、プレーンヨーグルト調製中に窒素ガスによるバブリングを行なわなかった場合は、加熱殺菌工程

により加熱殺菌前と比較して約30%量までDHNA量が低下することが認められた。

【0020】

【発明の効果】

本発明によって、液中の溶存酸素を低減させることで、飲食品本来の風味を損なうことなく、DHNA含有量の低下を有意に抑制できることが初めて可能となった。

【0021】

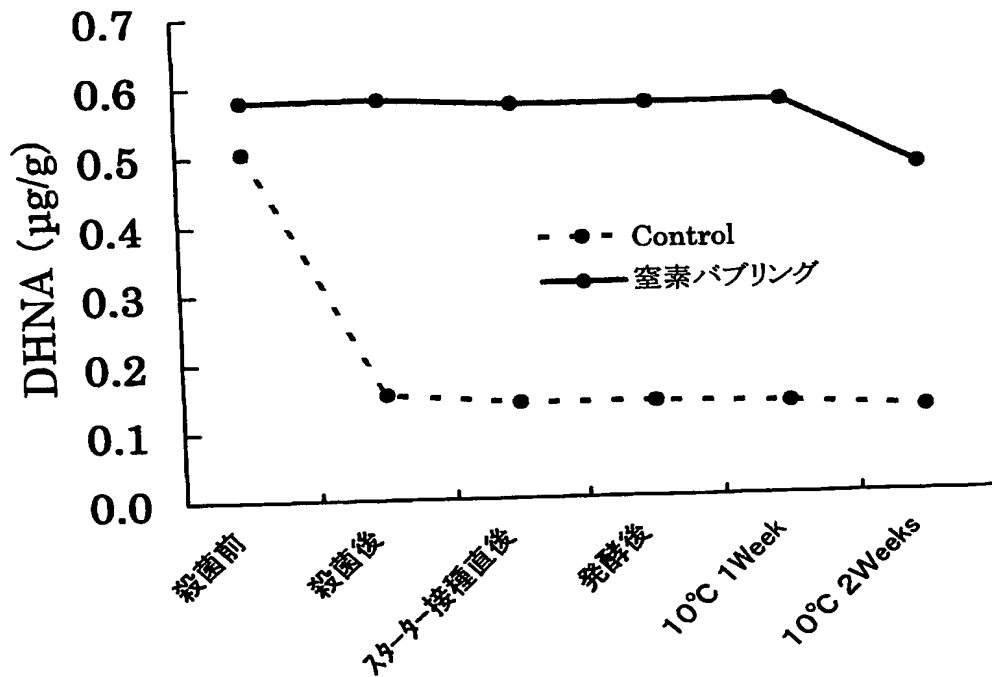
【図面の簡単な説明】

【図1】

DHNA含有プレーンヨーグルト調製中及び保存中のDHNA濃度変化を示すグラフである。

【書類名】 図面

【図 1】



プロピオン酸菌発酵物添加セットタイプ
ヨーグルトのDHNA量変化

【書類名】 要約書**【要約】 【課題】**

DHNAの活性低下を有効に抑制する方法として、安全性に優れ、風味を損なわずに使用できる飲食品、医薬品に適した方法を提供する。

【解決手段】

DHNAを含有する溶液の液中溶存酸素量を減少せしめる。

【効果】

DHNAの酸化を抑制し、本物質の含有量を維持することができる。また、食品、特に特定保健用食品、保健機能食品等の機能性食品に本発明を適用することで、腹部不耐症や骨代謝改善作用を有する飲食品を製造することが可能である。また、安全性に優れた医薬品の製造にも利用することができる。

【選択図】 なし

特願 2003-084827

出願人履歴情報

識別番号

[000006138]

1. 変更年月日
[変更理由]

住所
氏名

2001年10月 2日

住所変更

東京都江東区新砂1丁目2番10号

明治乳業株式会社

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☒ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**